

## 基于瞬时遗传转化揭示黑果枸杞 *LrSAUR* 启动子的特性

周昱良<sup>1</sup> 杨爱琳<sup>1</sup> 崔建国<sup>1</sup> 王玉成<sup>1</sup> 王钦美<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁省林木遗传育种与培育重点实验室, 沈阳农业大学; 沈阳市 110866)

**摘要:**【目的】通过不同长度 *LrSAUR* 启动子克隆及瞬时遗传转化方法揭示黑果枸杞 *LrSAUR* 启动子特性。【方法】以长势良好的黑果枸杞 (*Lycium ruthenicum*) 无菌组培苗为试验材料, 通过摸索农杆菌菌液浓度、乙酰丁香酮 (AS) 浓度、瞬时侵染时间和共培养时间建立瞬时转化体系。采用 PCR 方法克隆获得 *LrSAUR* 启动子, 构建 *LrSAUR* 启动子连接 *GUS* 基因的载体, 瞬时转化黑果枸杞, 分析不同组织中 *GUS* 基因表达水平, 进而采用外源喷施生长素吲哚-3-乙酸 (IAA) 和水杨酸 (SA) 的方法探究启动子对两种激素的响应能力以及驱动 *GUS* 基因表达能力的变化, 采用 *GUS* 染色及酶活测定评估启动子控制 *GUS* 基因的表达水平。【结果】1) 当农杆菌菌液浓度  $OD_{600}=0.6$ , 在其中添加  $150 \mu\text{mol/L}$  AS, 侵染时间 4 h, 农杆菌与幼苗共培养 2 d 时, 瞬时转化黑果枸杞效果最佳。2) 克隆获得黑果枸杞 *LrSAUR* 启动子 (2988 bp), 构建了全长和截断突变启动子的载体 p101GUS:proE (-2988)、p101GUS:proD (-2686)、p101GUS:proC (-1826)、p101GUS:proB (-788)、p101GUS:proA (-415) 共 5 个; 3) 通过农杆菌介导法对黑果枸杞和烟草 (*Nicotiana benthamiana*) 进行瞬时遗传转化, *GUS* 染色及酶活测定显示 -2988 bp 的 *LrSAUR* 启动子驱动 *GUS* 基因表达水平最高。4) *LrSAUR* 启动子控制 *GUS* 基因在黑果枸杞叶片和少部分根和茎表达, 是组织特异性启动子。5) 基于瞬时遗传转化材料 IAA 和 SA 处理结果显示, 在 -788 ~ -1826 bp 之间存在着生长素响应元件, -2686 ~ -2988 bp 之间可能存在着未知的生长素负调控元件; 在 -415 ~ -1826 bp 之间存在着未被发现的 SA 响应元件。【结论】成功建立了农杆菌介导的黑果枸杞瞬时遗传转化体系, 克隆黑果枸杞 *LrSAUR* 基因启动子并构建了启动子全长及截断长度的载体, 发现 *LrSAUR* 启动子是组织特异性的且全长启动子驱动 *GUS* 基因表达水平最高, *LrSAUR* 启动子有生长素响应元件 (-788 ~ -1826 bp)、生长素负调控元件 (-2686 ~ -2988 bp)、SA 响应元件 (-415 ~ -1826 bp)。本研究为揭示 *LrSAUR* 基因的功能机制奠定了基础。

**关键词:** 黑果枸杞; 瞬时转化; *LrSAUR*; 启动子; *GUS*